昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*，June 2006，49(3)：538 – 542　　ISSN 0454-6296

天津地区家蝇抗药性水平及与两种解毒酶的关系

张咏梅，孙晨熹*，李今越

（天津市卫生防病中心，天津　300011）

摘要：用点滴法对采自天津市 7 个郊区县的 7 个不同生境野外家蝇种群的抗药性进行了测定并与实验室内的相对敏感种群进行比较，对不同地区家蝇种群进行了羧酸酯酶(carboxylesterase，CarE)和谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase，GSTs)活性检测。结果表明，不同家蝇种群对 DDVP、高效氯氰菊酯和残杀威的抗性倍数不同，对 DDVP 抗性最高为 18.563 倍，最低为 1.885 倍；对高效氯氰菊酯最高为 14.071 倍，最低为 1.071 倍；对残杀威抗性倍数最高为 7.499 倍，最低为 1.071 倍。从 CarE 平均比活力看，室外家蝇种群 CarE 的比活力均高于室内相对敏感种群的比活力，CarE 活性的分布在敏感种群和不同地区野外种群间具有明显的重叠现象。天津不同地区 F_2 代家蝇 GSTs 的比活力抗性种群普遍高于室内相对敏感种群，大约在 2 ~ 4 倍之间，不同地区间也具有比较大的差异，而抗药性高的种群 GSTs 活性也高，GSTs 活性变化与不同种群抗性差异是相符的。

关键词：家蝇；抗药性；解毒酶；羧酸酯酶；谷胱甘肽 S-转移酶

中图分类号：Q965.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2006)03-0538-05

Detection of insecticide resistance and its relationship with two detoxification enzymes of *Musca domestica* in different areas of Tianjin

ZHANG Yong-Mei，SUN Chen-Xi*，LI Jin-Yue (Tianjin Centers for Disease Control and Prevention，Tianjin 300011，China)

Abstract：The insecticide resistance of field *Musca domestica* collected from 7 different populations of different habitats in seven administrative areas of Tianjin was determined by spot drip method and compared with the relatively sensitive strain in the laboratory. The individual carboxylesterase and glutathione S-transferase activity of populations from different areas were determined. The results indicated that the populations from different areas had different resistance levels to the insecticides tested. The resistance level to DDVP varied from 1.885 to 18.563 times，the resistance level to high effect cypermethrin varied from 1.071 to 14.071 times and the resistance level to propoxur varied from 1.071 to 7.499 times. The average activity of carboxylesterase of the field flies were higher than that of houseflies of the relatively sensitive strain in the laboratory. The distribution of carboxylesterase activity in both sensitive and field populations were obviously overlapped. The glutathione S-transferase activity of F_2 generations were quite different. The glutathione S-transferase activity of the field populations were higher than that of the relatively sensitive strain in the laboratory，varied regionally from 2 to 4 times，which was in accordance with the diversity of the insecticide resistance levels of *M. domestica* in different areas in Tianjin.

Key words：Housefly；insecticide resistance；detoxification enzymes；carboxylesterase；glutathione S-transferase

家蝇 *Musca domestica* 属于双翅目环裂亚目蝇科家蝇属的卫生害虫，是世界大多数地区的优势种。由于家蝇对环境具有高度的适应能力，繁殖力强，人类用药频繁，因而其对杀虫剂不仅容易产生抗性，而且抗性范围广泛，对施用过的药剂几乎都有不同程度的抗性。我国在 20 世纪 50 年代开始大量使用 DDT 和丙体六六六消灭家蝇，随后敌百虫、敌敌畏等有机磷杀虫剂也被广泛使用，到上个世纪 70 年代几

作者简介：张咏梅，女，1969 年生，主管医师，从事病媒防制工作，E-mail：beautyzhangym@yahoo.com.cn

* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：sunchenxi6688@126.com

收稿日期 Received：2005-11-14；接受日期 Accepted：2006-03-29

乎全国各地的家蝇对使用的有机磷杀虫剂普遍产生抗性。上个世纪 80 年代初拟除虫菊酯引进我国时由于它的高效、低毒及广谱性被用来防治农业及卫生害虫，但用于防治家蝇 3 年抗性就增长了 20 倍左右，个别地区（如四川成都）抗性增加到 101 倍（冷欣夫等，1996）。1997 ~ 1998 年天津野外家蝇对溴氰菊酯、高效氯氰菊酯和 DDVP 的抗性已达高抗水平，与 1985 年相比抗性分别提高到 12.64、14.16 和 1.2 倍；对残杀威抗性增长最高的地区是敏感地区的 133.07 倍（范俊兰等，1999）。

自发现家蝇产生抗药性以来，在抗性生化机制及分子生物学方面各国学者已做了大量工作。目前已明确家蝇对各类杀虫剂的抗性机制主要有表皮穿透性降低，多功能氧化酶（MFO）、酯酶（ESTs）和谷胱甘肽 S-转移酶（glutathione S-transferase，GSTs）等活性升高，乙酰胆碱酯酶（AChE）和神经膜受体等靶标部位敏感度降低（Dauterman，1983；冷欣夫等，1996；邱立红和张文吉，1999）。

对害虫抗药性水平的调查和对其形成机制的了解是制定抗性治理策略的依据。关于天津野外家蝇不同种群的抗药性调查已有一些零星报道（范俊兰等，1999；白淑萍等，2005）。但是，关于天津家蝇抗药性机制的研究还未见详细报道。我们研究了天津野外家蝇不同种群的抗药性水平以及相关的抗药性的生物化学机制，期望对指导天津家蝇抗药性的治理以及抗药性的快速监测有参考价值。

1　材料和方法

1.1　试虫来源及饲养

家蝇敏感种群（S）为室内培育经多年饲养的种群，未接触过任何杀虫药剂。家蝇野外种群用诱笼法采集，室内饲养至 F_1 和 F_2 代用于实验。

家蝇野外种群 7 个采集地点分别为：宝坻县养猪场，北辰区垃圾处理场，和平区垃圾处理场，河东区调料厂厂院内，津南区居民区垃圾点，西青区污水河边，东丽区中心公园绿地。

1.2　供试试剂、药剂及仪器

α-乙酸萘酯（α-NA），上海试剂一厂产品，化学纯；固蓝 B 盐为 Fluka 公司产品；2，4-二硝基苯甲酸（CDNB）为 Roth 公司产品；考马斯亮蓝 G-250，英国进口分装，中国医药公司北京采购供应站经销；谷胱甘肽（GSH）为美国 Sigma 公司产品。

DDVP（99%原药）和林丹（99.5%原药）为天津农药厂产品；高效氯氰菊酯（97%原药）为江苏扬州农药股份有限公司产品；残杀威（97%原药）由上海保康化工有限公司提供。

UV-120-02 型分光光度计，Shimadzu 公司产品；电子天平（Sartorius2004MP），Opton 公司产品；SPECTRA CLASSIC 酶标仪，TECAN 公司产品；高速台式离心机，德国 Eppendorf 公司产品；UV Lambda Bio40 型双光束分光光度计，美国 PE 公司产品；电热恒温水浴锅，北京医疗设备厂产品。

1.3　生物测定方法

用 F_2 代种群，取羽化第 4 天成虫（雌蝇），将供试药剂用丙酮各稀释成 6 个梯度浓度，用微量点滴器将 1 μL 量点滴于试虫中胸背板，每个浓度 2 组，每组 25 只雌蝇，24 h 后检查家蝇死亡数。用 POLO 软件计算 LD_{50} 值。

1.4　酶源制备和酶活性测定

1.4.1　GSTs 酶源制备：取羽化第 4 天的成虫（雌蝇）胸腹部，加 0.1 mol/L pH 6.5 的磷酸缓冲液，在冰水浴中匀浆，匀浆液于 4℃，10 000 × g 离心 20 min，取上清液作为酶源。每个种群做 3 个重复。

1.4.2　羧酸酯酶（carboxylesterase，CarE）酶源制备：取羽化第 4 天的成虫（雌蝇）胸腹部，加 0.04 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液，在冰水浴中匀浆，匀浆液于 4℃，5 000 × g 离心 15 min，取上清液作为酶源。每个种群做 3 个重复。

1.4.3　CarE 活性测定：参考 van Asperen（1962）和郑炳宗等（1988）方法，以 α-NA 为底物（含毒扁豆碱 10^{-5} mol/L），在 30℃ 下水浴反应 15 min，然后加入 0.5 mL 显色液终止反应，分别在 600 nm 处测定光密度值。

1.4.4　GSTs 活性测定：参照 Habig 等（1981）方法。以 30 mmol/L GSH，30 mmol/L CDNB 各 0.03 mL，酶液 0.03 mL，0.1 mol/L pH 6.5 的磷酸缓冲液（PBS）0.81 mL 组成的反应体系测定酶活性。

2　结果与分析

2.1　抗药性水平比较

天津野外家蝇不同种群对 DDVP、高效氯氰菊酯、残杀威的相对敏感度见表 1。北辰区家蝇种群对 DDVP 和高效氯氰菊酯的抗性相对较高，与室内相对敏感种群比较，抗性倍数分别为 18.563 和 14.071 倍。津南区家蝇种群对 DDVP 和残杀威的抗性相对较高，分别为 7.230 和 7.499 倍。宝坻、东丽

和河东区家蝇种群对3种药剂都比较敏感，抗性倍数在2.000以下。西青区家蝇种群对DDVP、高效氯氰菊酯和残杀威的抗性分别为3.782、5.286和5.471倍。可以看出天津野外家蝇不同种群抗药性水平以及抗性谱是不一致的，这可能与家蝇的防治用药历史不同有关。

表1 天津野外家蝇不同种群(F_2)的抗药性水平

Table 1 Resistance levels to insecticides of the housefly (F_2) collected from different areas of Tianjin

种群 Populations	DDVP			高效氯氰菊酯 Cypermethrin			残杀威 Propoxur		
	LD$_{50}$ (μg/♀) (95% CL)	$b \pm SE$	抗性倍数 RR	LD$_{50}$ (μg/♀) (95% CL)	$b \pm SE$	抗性倍数 RR	LD$_{50}$ (μg/♀) (95% CL)	$b \pm SE$	抗性倍数 RR
敏感 S	0.087 (0.053~0.142)	0.904±0.108	1.000	0.014 (0.005~0.041)	0.345±0.066	1.000	1.191 (0.805~1.763)	1.354±0.119	1.000
宝坻 Baodi	0.164* (0.122~0.221)	1.571±0.065	1.885	0.015 (0.009~0.024)	0.845±0.105	1.071	2.104* (0.874~5.066)	0.584±0.195	1.767
北辰 Beichen	1.615* (0.917~2.844)	0.892±0.125	18.563	0.197* (0.121~0.319)	1.099±0.107	14.071	2.714* (1.321~5.579)	0.781±0.160	2.279
和平 Heping	0.818* (0.522~1.283)	1.274±0.099	9.402	0.024* (0.019~0.031)	1.399±0.077	1.714	1.539 (0.891~2.66)	1.045±0.097	1.292
河东 Hedong	0.126* (0.074~0.213)	0.922±0.117	1.448	0.028* (0.015~0.052)	1.936±0.056	2.000	1.276 (0.798~2.042)	0.843±0.121	1.071
津南 Jinnan	0.629* (0.371~1.065)	2.043±0.073	7.230	0.172* (0.093~0.321)	0.734±0.139	12.286	8.931* (4.514~17.669)	0.737±0.151	7.499
西青 Xiqing	0.329* (0.187~0.579)	1.169±0.125	3.782	0.074* (0.045~0.124)	0.814±0.138	5.286	6.516* (3.611~11.758)	0.879±0.104	5.471
东丽 Dongli	0.265* (0.218~0.322)	2.478±0.044	3.046	0.015 (0.011~0.022)	1.019±0.113	1.071	1.400 (0.746~2.638)	0.760±0.131	1.175

*：表示各野外种群与敏感种群之间有极显著差异 Indicating a difference between the sensitive strain and different field populations at $P<0.01$.

2.2 天津野外家蝇不同种群CarE和GSTs活性比较

2.2.1 CarE活性在家蝇不同世代的稳定性：通过检测天津野外家蝇不同种群F_1和F_2代CarE的平均比活力，发现从野外采回的家蝇种群F_1代CarE的活性均小于F_2代的CarE活性，最高相差近10倍(表2)。这可能与家蝇野外种群接触了对CarE具有抑制作用的污染物有关。说明家蝇野外种群的CarE活性是不稳定的，F_1代不能直接用于CarE活性测定，要选F_2代以后的种群。

2.2.2 天津家蝇野外种群抗药性与CarE活性的关系：从CarE的平均比活力看，家蝇野外种群CarE的

表2 天津野外家蝇不同种群谷胱甘肽S-转移酶和羧酸酯酶比活力的比较

Table 2 Comparison of carboxylesterase and glutathione S-transferase activity in housefly populations collected from different areas of Tianjin

种群 Populations	代数 Generation	谷胱甘肽S-转移酶 GSTs		羧酸酯酶 CarE	
		活性 Activity [nmol/(min·mg)]	倍数 RR	活性 Activity [OD/(min·mg)]	倍数 RR
敏感 S	–	192.670±7.210	1.000	0.486±0.103	1.000
宝坻 Baodi	F_1	141.660±6.532^{*b}	0.735	0.894±0.018^{*b}	1.840
	F_2	348.160±7.194^{*b}	1.807	1.889±0.059^{*b}	3.887
和平 Heping	F_1	336.589±12.832^{*b}	1.747	0.652±0.017^{*b}	1.342
	F_2	382.199±8.918^{*b}	1.984	1.177±0.047^{*b}	2.422
津南 Jinnan	F_1	474.402±7.433^{*b}	2.462	0.496±0.036*	1.021
	F_2	321.720±7.734^{*b}	1.670	0.870±0.021^{*b}	1.790
河东 Hedong	F_1	237.481±14.072^{*b}	1.233	0.714±0.124*	1.469
	F_2	358.433±5.4797^{*b}	1.860	3.706±0.292^{*b}	7.626
西青 Xiqing	F_1	185.183±13.470*	0.961	0.523±0.136*	1.076
	F_2	533.153±12.022^{*b}	2.767	5.207±0.300^{*b}	10.714
东丽 Dongli	F_1	341.881±6.778^{*b}	1.774	0.590±0.044*	1.214
	F_2	399.096±4.391^{*b}	2.071	1.048±0.165^{*b}	2.156
北辰 Beichen	F_1	703.661±4.680^{*b}	3.652	0.986±0.132^{*b}	2.029
	F_2	601.029±8.553^{*b}	3.119	3.476±0.041^{*b}	7.152

*：表示同一种群F_1与F_2代之间有极显著差异 Indicating a difference between the F_1 and F_2 at $P<0.01$.

b：表示各野外种群与敏感种群相比有极显著差异 Indicating a difference between the sensitive strain and different field populations at $P<0.01$.

比活力均高于室内相对敏感种群的比活力，但是抗药性程度与家蝇 CarE 的活性并不存在线性关系（表 2）。通过检测不同地区家蝇种群单一个体 CarE 的比活力，发现 CarE 活性的分布在敏感种群和不同地区野外种群间具有明显的重叠现象（图 1）。说明这些种群基本上都属于杂合种群，有些种群内部个体间 CarE 比活力的差异比较大，但是在高 CarE 活性段分布的个体频率与其抗药性水平基本上呈正相关性。

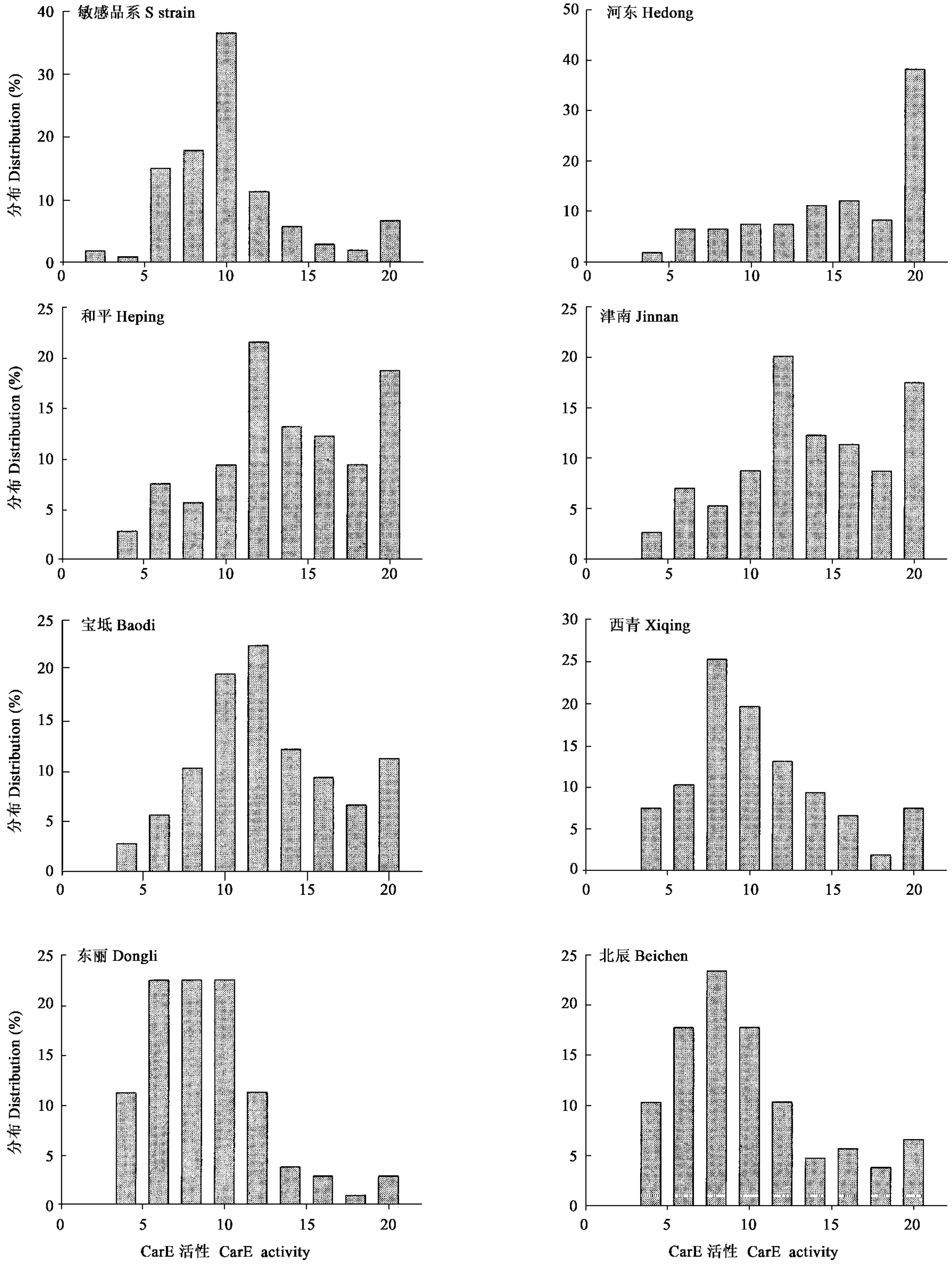

图 1　天津家蝇羧酸酯酶活性分布

Fig. 1　Distribution of the specific activity of carboxylesterase in houseflies collected from different areas of Tianjin

2.2.3 天津野外家蝇不同种群 GSTs 活性的比较：

除宝坻和西青种群外，家蝇抗性种群 F_2 代 GSTs 的比活力普遍高于室内相对敏感种群的，大约在 2～4 倍之间；不同种群间也存在比较大的差异，与其对供试药剂的抗药性程度是一致的（表 2）。

3 讨论

本研究结果表明天津野外家蝇种群已经对不同类型的药剂产生了不同程度的抗性，但是由于用药历史不同，不同种群产生的抗性水平和抗性谱是不一致的。不同地区的家蝇种群间也具有比较大的差异，这与天津野外家蝇不同种群的抗药性的差异是相符的。对家蝇抗药性机制的了解对于抗药性的快速监测、治理具有重要的参考价值。邱立红和张文吉（1999）用辛硫磷和溴氰菊酯对敏感家蝇进行汰选培育，所得的不同抗性水平家蝇非特异性 ESTs 及 CarE 活力明显高于敏感品系，并且除了处于中抗水平的抗辛硫磷家蝇 PR5，其他各抗性品系的 CarE K_m 值均显著下降，说明 CarE 发生了质的变化，对底物的亲和力显著增强；并且各品系的 V_{max} 值均比敏感品系的明显提高，表明酶反应速度加快、活性增强。

GSTs 是一类多功能的解毒酶。GST 结合杀虫剂后，增强了杀虫剂分子的水溶性，有利于被害虫排泄出体外，从而使杀虫剂解毒。Dauterman（1983）研究发现 GST 也是昆虫对氨基甲酸酯类杀虫剂产生抗性的重要因子。在家蝇品系中，GST 的基因是在第Ⅱ染色体上，与 CarE 的基因紧密靠在一起，因此 GST 的活性常伴随 CarE 的活性。Lewis（1969）首次发现家蝇对二嗪农的抗性与高 GST 活性有关。Chein 和 Dauterman（1991）发现在有 GSH 存在的情况下，家蝇 Rutgers 多抗性品系的可溶性酶液对二嗪磷的降解比敏感的 CSMA 品系要快。Oppenoorth 和 van Asperen（1961）研究发现，家蝇抗杀虫畏品系（Corne11-R strain）的抗性形成是 AChE 敏感度降低、GSTs 活性升高和水解酶活性升高共同起作用的结果。

本实验结果表明天津野外家蝇种群对 DDVP、高效氯氰菊酯和残杀威的敏感度均出现不同程度的降低，CarE 和 GSTs 的活性亦有相应提高。因此，在野外家蝇防治时应注意对上述药剂的抗性监测以及利用 CarE 和 GSTs 的抑制剂作为抗药性治理的增效剂。

参考文献（References）

Bai SP, Zhang YM, Li JY, 2005. Insecticides resistance and control strategy of *Musca domestica* to normal insecticides. *Chinese Journal of Hygienic Insecticides & Equipments*, 11(1): 39－41. [白淑萍，张咏梅，李今越，2005. 家蝇对常用杀虫剂的抗性及对策. 中华卫生杀虫药，11(1): 39－41]

Chein C, Dauterman WC, 1991. Studies on glutathione S-transferase in *Helicoverpa zea*. *Insect Biochem*., 21(8): 857－864.

Dauterman WC, 1983. Role of hydrolysis and glutathione S-transferases in insecticide resistance. In: Georgiou GP, Saito T eds. Pest Resistance to Pesticide. New York: Plenum Press. 229.

Fan JL, Cao XM, Zhang YM, Wu TY, Li PY, 1999. Resistance determination on nine insecticides to housefly in Tianjin. *Chinese Journal of Pest Control*, 15(12): 621－625. [范俊兰，曹晓梅，张咏梅，吴彤宇，李培羽，1999. 天津市家蝇对九种杀虫剂的抗性测定. 医学动物防制，15(12): 621－625]

Habig WH, 1981. Method in enzymology. In: William BJ ed. Assays for Differentiation of Glutathione S-transferases. New York: Academic Press. 77.

Leng XF, Tang ZH, Wang YC, 1996. Molecular Toxicology on Insecticide and the Insect Resistance. Beijing: China Agriculture Press. 7－8. [冷欣夫，唐振华，王荫长，1996. 杀虫剂分子毒理学及昆虫抗药性. 北京：中国农业出版社. 7－8]

Lewis JB, 1969. Detoxication of diazion by subcellular fractions of diazinon resistant and susceptible house flies. *Nature*, 224: 917.

Oppenoorth FJ, van Asperen K, 1961. The detoxication enzymes causing organophosphate resistance in the housefly: properties, inhibition, and the action of inhibitors as synergists. *Entomol. Exp. Appl*., 4: 311－333.

Qiu LH, Zhang WJ, 1999. Study on cross-resistance of the housefly, *Musca domestica*, with different resistance levels to organophosphorus and pyrethroids insecticides. *Journal of China Agricultural University*, 4: 86－92. [邱立红，张文吉，1999. 不同抗性水平家蝇对有机磷、拟除虫菊酯等药剂的交互抗性研究. 中国农业大学学报，4: 86－92]

van Asperen K, 1962. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol*., 8(4): 401－416.

Zheng BZ, Gao XW, Wang ZG, Cao BJ, 1988. Primary study on the resistance to pyrethroids of *Aphis gossypii* in melon fields in Beijing and the northern part of Hebei Province. *Acta Phytophy. Sin*., 15: 55－61. [郑炳宗，高希武，王政国，曹本均，1988. 北京及河北省北部地区瓜棉蚜对拟除虫菊酯抗性初步研究. 植物保护学报，15: 55－61]

（责任编辑：黄玲巧）